

Über den Einfluß von Digitoxigenin
auf den Sauerstoff-Verbrauch
und die Kontraktionskraft
isolierter Herzmuskelpräparate

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von
ROLF KREBS
aus Mainz

Mainz 1966

1967

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Über den Einfluß von Digitoxigenin
auf den Sauerstoff-Verbrauch
und die Kontraktionskraft
isolierter Herzmuskelpräparate

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von
ROLF KREBS
aus Mainz

Mainz 1966

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. G. Kuschinsky)

Über den Einfluß von Dinitrophenol
auf den Sauerstoff-Verbrauch
und die Kontraktionskraft
isolierter Herzmuskelpräparate



Inaugural-Dissertation
zur Erhaltung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Universität Mainz

Dekan: Prof. Dr. L. Diethelm
Referent: Priv. Doz. Dr. W. Klaus
Korreferent: Prof. Dr. G. Kuschinsky

Tag der mündlichen Prüfung: 3.6.1967

vorgelegt von
ROLF KREBS
aus Mainz

Mainz 1967

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
1. Problematik	1
2. Fragestellung	3
II. Methoden	5
1. Versuchsanordnung	5
2. Sauerstoffmessung	7
3. Versuchsdurchführung	12
III. Auswertung	14
1. Kontraktionskraft	14
2. Sauerstoffverbrauch	14
3. Berechnung des Wirkungsgrades	14
4. Statistische Auswertung der Meß-	
ergebnisse	15
a) Problemstellung	15
b) Ermittlung der Meßwertstreuung	16
c) Ermittlung des Versuchsfehlers und	
der Unterschiede zwischen den Gruppen	17
d) Schlußfolgerungen	22
IV. Ergebnisse	23
1. Verhalten der Kontraktionskraft	23
2. Verhalten des Sauerstoffverbrauches	23
3. Wirkungsgrad des Herzmuskels	27
V. Diskussion	30
VI. Zusammenfassung	42
VII. Literaturverzeichnis	44
Lebenslauf	

1. Einleitung

1. Problematik

Für die Klärung der cellulären Wirkung von Pharmaka am Herzen spielt die Untersuchung des Energiestoffwechsels unter dem Einfluß dieser Substanzen eine wesentliche Rolle. Besonders einfach und günstig erscheint es, die Atmung als Kriterium zur Beurteilung der oxydativen Stoffwechselprozesse heranzuziehen, da zu ihrer Messung die physiologischen Bedingungen relativ wenig gestört werden müssen. Dieser Vorteil ist allerdings mit einer relativ geringen Aussagekraft hinsichtlich der Art und Lokalisation des Angriffspunktes im Zellstoffwechsel verbunden. Trotzdem können mit diesem Vorgehen einige wesentliche Informationen erhalten werden, so sind z.B. die Beziehungen zwischen dem mechanischen Geschehen und den indirekt durch die Atmung erfaßbaren oxydativen Stoffwechselvorgängen von großer Bedeutung, da sie Aufschluß über die Ökonomie der Herzarbeit zu geben vermögen. Beide Meßgrößen lassen sich bei geeigneter Versuchsanordnung am isolierten Herzmuskel-Präparat unter standardisierten Bedingungen quantitativ erfassen.

Derartige Versuche wurden zunächst am Herzlungenpräparat von GREMELS (1937) und GOLLWITZER-MEIER u. Mitarb. (1937)

durchgeführt. Die dabei erzielten Ergebnisse ließen eine Zunahme des Sauerstoff-Verbrauchs bei Spontan-Insuffizienz des Herzens erkennen. Herzglycoside im therapeutischen Wirkungsbereich verursachen dann eine Abnahme des Sauerstoff-Verbrauchs. Die Untersuchungen von PETERS u. FISCHER (1936) am Herz-Lungen-Präparat mit konstantem diastolischem Volumen zeigten dagegen bei Spontaninsuffizienz eine deutliche Abnahme und im therapeutischen Wirkungsbereich der Glycoside eine Zunahme des Sauerstoff-Verbrauches. Spätere Untersucher betrachteten isoliert das Verhalten des Sauerstoff-Verbrauches von Herzmuskel-Schnitten unter der Einwirkung der Digitalis-Glycoside. Diese Untersuchungen an Herzmuskelschnitten der Ratte (LEVY u. Mitarb. 1946), des Meerschweinchens (WOLLENBERGER 1947) und der Katze (FINKELSTEIN u. BODANSKY 1948) zeigten, daß die Sauerstoff-Aufnahme dieser Gewebe nur dann durch Glycoside gesteigert wird, wenn der Sauerstoff-Verbrauch vorher stark abgefallen war. Ähnliche Ergebnisse erhielt REITER (1953) bei Versuchen mit Herzmuskelstreifen der Ratte. Er wies außerdem darauf hin, daß die Kontraktionskraft der Herzmuskelstreifen pro Stunde um ca. 50%, der Sauerstoff-Verbrauch in der gleichen Zeit um 10% abgenommen haben. Strophanthin verhinderte zunächst den Abfall des Sauerstoff-Verbrauches, bewirkte aber nach Verminderung

der Kontraktionskraft auf 30% des Ausgangswertes einen Anstieg der Atmung. REITER hatte die Sauerstoff-Bestimmung mit der manometrischen Methode nach WARBURG, die Isometrischen Kontraktionen in bestimmten Intervallen photographisch bestimmt und dadurch aus technischen Gründen keine kontinuierliche gleichzeitige Messung beider Größen vornehmen können. Erst LEE (1960) führte die polarographische Sauerstoffmessung mittels der Platinelektrode in diese Untersuchungen ein, wodurch es möglich wurde, sowohl den Sauerstoff-Verbrauch als auch die Kontraktionskraft des Herzens gleichzeitig und fortlaufend zu registrieren.

Einen Nachteil hatte das von LEE (1960) angegebene Verfahren in der aus methodischen Gründen erforderlichen langsamen Perfusionsgeschwindigkeit des Organbades, die nur eine mäßige zeitliche Auflösung von Sauerstoffkonzentrationsänderungen und keine optimale Sauerstoff-Versorgung des Präparates erlaubte. Die $\dot{Q}_{O_2}$ -Werte lagen im Vergleich zu den Angaben anderer Untersucher auch um ca. 50% niedriger.

2. Fragestellung

Da in den früheren Untersuchungen z.T. nur bedingt brauchbare Meßmethoden verwendet wurden und z.T. keine sichere Unterscheidung zwischen der therapeutischen und toxischen

Wirkung der Herzglycoside vorgenommen wurde oder aber aus methodischen Gründen nicht vorgenommen werden konnte, wurden unterschiedliche Ergebnisse bzw. Interpretationen erzielt.

Es sollte nun mit einer empfindlicheren Methode gleichzeitig der Sauerstoff-Verbrauch und das Kontraktionsverhalten während verschiedener funktioneller Phasen der Herzglycosid-Wirkung gemessen werden, um für die einzelnen Stadien brauchbare Hinweise auf den Wirkungsgrad der Herzarbeit zu erhalten.

Im Prinzip wurde die von LEE (1960) angegebene Methode verwendet, jedoch durch Verwendung einer wesentlich stabileren und empfindlicheren Sauerstoffelektrode mit kürzerer Einstellzeit und durch Steigerung der Perfusionsgeschwindigkeit so weiterverbessert, daß ein größeres zeitliches Auflösungsvermögen der Sauerstoff-Konzentrations-Änderungen in der Badlösung resultierte und damit eine engere Korrelation zu den gleichzeitig und fortlaufend registrierten mechanischen Äußerungen des Herzmuskelpräparates während verschiedenen funktionellen Phasen der Herzglycosidwirkung möglich war.

II. Methoden

1. Versuchsanordnung (s. Abb. 1)

Das Organbad bestand aus einem Glashohlzylinder, in den die aus Plexiglas gefertigte, mit Reizelektroden aus Platin versehene Muskelhalterung so eingepaßt war,

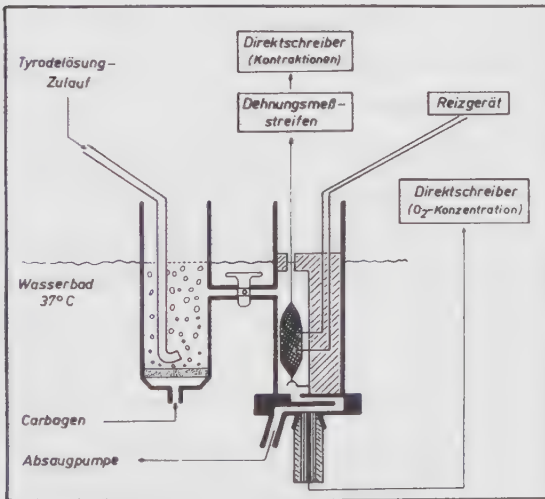


Abb. 1

Schema der Versuchsanordnung. Erklärung s. Text.

daß nur ein schmaler Spaltraum mit einem Volumen von 0,7 ml für den Muskel verblieb. Der Vorhof wurde über ein Silberkettchen, das durch eine kapillare Bohrung aus dem Organbad herausgeführt wurde, an einem Dehnungsmeßstreifen mit einer Vorspannung von 1 g befestigt. Die Kontraktionskraft der elektrisch gereizten Präparate wurde auf einem Sanborn-Direktschreiber (Trägerfrequenzverstärker, JM-296-2 der Fa. Sanborn, Waltham, USA) fortlaufend registriert. Das Organbad wurde kontinuierlich mit Tyrodelösung durchströmt, die in vorgeschalteten Begasungsgefäßen mit Carbogen gesättigt wurde. Über einen Dreiwegehahn konnten wechselweise zwei verschiedene Lösungen an das System angeschlossen werden. Die Begasungsgefäße standen über ein Zuleitungssystem nach dem Prinzip kommunizierender Röhren mit Vorratsbehältern in Verbindung, die freischwebend im Wasserbad angeordnet waren, so daß trotz laufender Entnahme immer ein unveränderter Flüssigkeitsstand im System und damit ein konstanter hydrostatischer Druck auf der Sauerstoffelektrode gewährleistet war. Die Füllhöhe des Systems wurde somit allein durch den Spiegel des Wasserbades und der Eintauchtiefe des Organbades bestimmt und so einreguliert, daß die Tyrodelösung mit dem Oberrand der kapillaren Bohrung des Organbades abschloß. Eine Abnahme der Sauerstoffkonzentration der Tyrodelösung im Organbad durch

Diffusionsausgleich mit der Außenluft konnte verhindert werden, indem ein Carbogenstrom über diese Kontaktstelle geleitet wurde. Die Tyrodelösung wurde mittels einer Schlauchpumpe (Fa. Bühler, Tübingen) mit konstanter Geschwindigkeit von 0,35 ml/min über ein Kapillarsystem aus dem Organbad abgesaugt und dabei an der Sauerstoffelektrode vorbeigeleitet.

2. Sauerstoffmessung

Der Sauerstoffverbrauch der Vorhofpräparate wurde aus der polarographisch ermittelten Sauerstoffkonzentrationsänderung in der Tyrodelösung fortlaufend bestimmt.

Seit HEYROVSKY (1924) gefunden hatte, daß mit der polarographischen Analysenmethode Sauerstoffmessungen in Elektrolytlösungen vorgenommen werden können, wurde dieses Prinzip vielfach verwendet. Dabei hatte zunächst die Quecksilber-Tropfelektrode gegenüber der Platinelektrode den Vorteil einer geringeren Störanfälligkeit. Erst CLARK (1953, 1956) gelang es, die Platinelektrode so zu modifizieren, daß reproduzierbare Sauerstoffmeßwerte erhalten werden konnten. Das nach ihm benannte Prinzip besteht in der Vereinigung der Platin- und der Bezugselektrode hinter einer sauerstoffdurchlässigen Membran, die Störfaktoren aus der Elektrolytlösung von der Platinoberfläche fernhält. Nach dem CLARK-Prinzip arbeiteten z.B. DAVIES

u. BRONK (1942) sowie DRENKHAHN (1951, 1956) mit einer Kollodiummembran, MORGAN u. NAHAS (1950) mit einer silikatisierten Elektrode. Da die Einstellzeit der Elektrode bei Änderung der Sauerstoffkonzentration von der Diffusionsstrecke zur Platinelektrode abhängt (KUNZE u. Mitarb. 1962), konnte durch Verwendung von Polystyrolmembranen eine wesentliche Verbesserung der Sauerstoffmessung erreicht werden (BARTELS u. REINHARDT 1960). Die trotzdem noch bestehende relativ große Störanfälligkeit beruhte auf der nicht stabilisierten Diffusionsstrecke zwischen Membran und Platinoberfläche, wodurch bei geringsten mechanischen Belastungen der Membran Eichkurvenverschiebungen resultierten, sowie auf der Verwendung von Plexiglas als Baumaterial, das durch Adsorption Sauerstoffkonzentrationsänderungen bewirkte (SEVERINGHAUS u. BRADLEY 1958, BARBEY 1953). Diese Nachteile wurden bei der von GLEICHMANN u. LÜBBERS (1960) entwickelten, durch ein Cellophanplättchen stabilisierten, Ganzglas-Platinelektrode vermieden.

Die eigenen Messungen wurden mit einer Platinelektrode vorgenommen, die gegenüber dem von GLEICHMANN u. LÜBBERS entwickelten Modell nur geringfügig abgewandelt war (Abb. 2). Ein 0,5 mm dicker Platindraht wurde luftblasenfrei in einen Glasstab eingeschmolzen und an

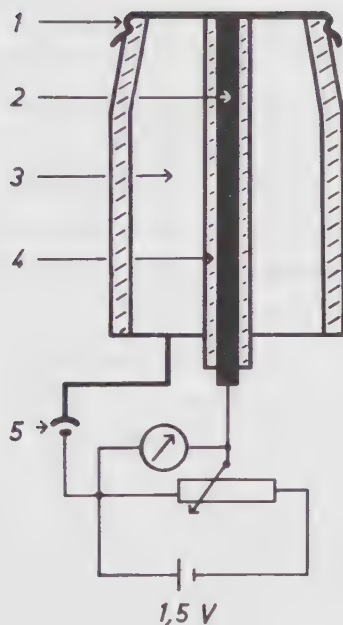


Abb. 2

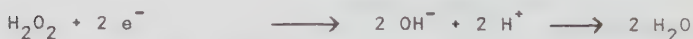
Schema der Platinelektrode und des Meßkreises zur polarographischen O_2 -Messung. 1 = Teflonmembran; 2 = Platindraht 0,5 mm $\varnothing$; 3 = Elektrolytspalt mit KCl + Agar-Agar 3%; 4 = Glasmantel des Platindrahtes; 5 = Bezugselektrode (Kalomel-Element)

Von einer Spannungsquelle (Batterie 1,5 V) wird die Polarisationsspannung erzeugt, die an dem Widerstand abgegriffen werden kann. Diese Polarisationsspannung wird an die polarographischen Meßeinheiten gelegt, welche aus Platinelektrode, Elektrolyt und Bezugselektrode bestehen. Den jeweils fließenden Strom zeigt das Meßinstrument an.

der Oberfläche glatt poliert.

Darauf wurde er zentral in ein Glasröhrchen eingeschmolzen, dessen unteres Ende mit einer 0,6 μ dicken Teflonmembran (Fa. Hut u. Söhne, Biedigheim/Würtbg.) verschlossen wurde, die eine bessere Sauerstoffdurchlässigkeit aufweist, als früher verwendete Polyethylenmembranen (KREUZER 1953, THEWS 1962). Diese Platinelektrode war über eine Brücke aus gesättigter KCl-Lösung, die sich im konzentrischen Spaltraum zwischen Platinelektrode, Glasmantel und Teflonmembran befand und im unteren Abschnitt durch Zusatz von 3% Agar-Agar stabilisiert war, mit der Kalomelbezugselektrode verbunden.

Legt man an diese Platinelektrode entsprechend dem Schaltbild (Abb. 2) eine negative Spannung an, so werden die Sauerstoff-Moleküle, die aus der Außenlösung durch die Teflonmembran an die Platinoberfläche diffundiert sind, in einer elektrochemischen Reaktion reduziert. Der Sauerstoff reagiert mit H_2O unter Einbeziehung zweier Elektronen aus dem Stromkreis zu H_2O_2 . Weitere Anlagerung von zwei Elektronen läßt daraus zwei H_2O -Moleküle entstehen (KOLTHOFF u. LINGANE 1952, TÖDT 1958):



Wenn der an die Platinoberfläche angelegte Strom so groß ist, daß in jedem Augenblick alle an der Elektrodenoberfläche eintreffenden Sauerstoff-Moleküle reduziert werden, so bleibt bei Veränderung der angelegten Spannung über einen größeren Bereich der Reduktionsstrom gleich und wird dann durch die Menge des nachdiffundierenden Sauerstoffs bestimmt. Unter diesen Bedingungen ist der Sauerstoff-Diffusionsgrenzstrom dem Sauerstoff-Partialdruck der Lösung proportional und kann zu dessen Bestimmung verwendet werden.

Das bei Stromfluß sich ausbildende Sauerstoff-Konzentrationsgefälle zwischen der Platinoberfläche ($O_2 = 0$) und der Außenlösung hatte bei der geschilderten Versuchsanordnung keine störende Auswirkung auf die Messung, da der Eigenverbrauch der Elektrode im Vergleich zum Sauerstoff-Gehalt der kontinuierlich vorbeiströmenden Lösung sehr gering war ($\Delta pO_2 < 1\%$).

Nach Äquilibrierung der Tyrodelösung mit verschiedenen sauerstoffhaltigen Gasgemischen ($O_2 + N_2$) wurden für jede Sauerstoff-Konzentration die Stromspannungsbeziehungen unter den üblichen Versuchsbedingungen (Durchfluß = 0,35 ml/min; 37°C) aufgenommen. Der Plateaubereich dieser Polarogramme (= Diffusionsgrenzstrombereich) erstreckte sich in der Regel zwischen

0,5 - 0,85 V. Die meisten Messungen wurden mit 0,65 V vorgenommen. Die Eichkurven für die Sauerstoffkonzentrationen in der Lösung verliefen dabei linear und durch den Nullpunkt. Die Empfindlichkeit der Elektrode war relativ groß (35 nA/mm Hg O_2 - Partialdruck), so daß ohne weitere Verstärkung geringfügige Änderungen des Reduktionsstromes während des Versuches auf einem Direktschreiber (Mikrograph der Fa. Kipp u. Zonen, Empfindlichkeitsstufe 0,5 $\mu A/21$ cm Schreibbreite) registriert werden konnten. Änderungen der Sauerstoffspannung im Organbad wurden bei dem geschilderten Vorgehen nach 1-2 Minuten voll angezeigt.

3. Versuchsdurchführung

Als Herzmuskelpräparate wurden linke Vorhöfe von 180 - 250 g schweren Meerschweinchen verwendet. Die Tiere wurden durch Genickschlag getötet, die Herzen rasch entnommen und in carbogendurchperliter Tyrodelösung präpariert. Anschließend wurden die isolierten Vorhofpräparate in die Muskelhalterung eingebunden und damit in das Organbad der Meßanordnung verbracht. - (s. Abb. 1)

Vom Töten der Tiere bis zum Versuchsbeginn vergingen im Mittel 4 Minuten. Sämtliche Versuche wurden mit carbogengesättigter Tyrodelösung (in mMol/l: Na 149; K 5,4; Ca 1,8; Mg 1,05; Cl 145; H_2PO_4 0,42; HCO_3 11,9)

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,0416), die z.T. verschiedene Konzentrationen von Digitoxigenin enthielt, bei 37°C durchgeführt. Die Präparate konnten über Platinelektroden mit Rechteckimpulsen (5 msec, 20 V, 240/min) elektrisch gereizt werden (Grass-Stimulator SM-6).

Zu Beginn eines jeden Versuches wurde mit Tyrodelösung bekannten Sauerstoff-Gehaltes die Empfindlichkeit und Einstellungsgeschwindigkeit der Elektrode unter den gewünschten experimentellen Bedingungen geprüft. Bei größeren Abweichungen konnten die optimalen Bedingungen durch Ersetzen der Teflonmembran oder durch Polieren der Platinoberfläche wieder hergestellt werden. Dann wurde das Muskelpräparat eingebracht und zunächst die Sauerstoffkonzentrationsänderung in der vorbeiströmenden carbogengesättigten Lösung während einer Ruheperiode registriert. Nachdem sich ein konstanter Wert eingestellt hatte, wurde elektrisch gereizt (240/min) und parallel zu den Kontraktionen der weitere Sauerstoffverbrauch gemessen. Ein Eigeneffekt der Reizung auf die Sauerstoffmessung konnte in Vorversuchen ausgeschlossen werden. Nach diesem Kontrollvorlauf wurde durch Umschalten auf das zweite Vorratsgefäß die weitere Perfusion mit digitoxigeninhaltiger (10^{-6} g/ml) Tyrodelösung fortgesetzt und die Änderungen gegenüber der Kontrollperiode registriert. Bei Versuchsende wurde die Empfindlichkeit der Elektrode erneut getestet und etwaige geringfügige Änderungen bei der Auswertung der Versuche berücksichtigt.

III. Auswertung

1. Kontraktionskraft

Die Spannungsänderung wurde im Mechanogramm in Minutenabständen in mm abgelesen und entsprechend der jeweiligen Eichung in g/mg Trockengewicht (TG) umgerechnet.

2. Sauerstoffverbrauch

Aus den registrierten Änderungen des Reduktionsstromes, den Eichwerten, der Perfusionsgeschwindigkeit und dem Löslichkeitskoeffizienten für O_2 in Tyrodelösung ($\alpha = 0,0227$ ml O_2 /ml Lösung bei $37^\circ C$ und Luftdruck von 760 mm Hg) wurde die Sauerstoff-Konzentrationsänderung im Perfusat für jede Minute errechnet. Etwaige Nullpunktverschiebungen und Empfindlichkeitsänderungen konnten korrigiert werden, da vor und nach jedem Versuch eine Eichung vorgenommen wurde. Der gesamte Sauerstoffverbrauch wurde auf das Trockengewicht des Muskels bezogen und der Q_{O_2} -Wert in $\mu l O_2$ /mg TG $\cdot$ h errechnet.

3. Berechnung des Wirkungsgrades

Wird die Spannungsentwicklung des Muskels in Beziehung gesetzt zum jeweiligen Sauerstoff-Mehrverbrauch gegenüber der dazugehörigen Ruheperiode, so erhält man in

dem Quotienten $\Delta k / \Delta O_2$ (g/ μ l) ein Maß für den "Wirkungsgrad" des Muskels. Je größer dieser Wert ist, desto mehr Arbeit wird pro Energieverbrauch geleistet, d.h. umso ökonomischer arbeitet der Muskel.

4. Statistische Auswertung der Meßergebnisse

a) Problemstellung

Zum statistischen Vergleich der Versuchsergebnisse (Q_{O_2} , Wirkungsgrad) wurden die einzelnen Versuche in folgende Meßperioden unterteilt:

1. Ruhe - Kontrolle
2. Reizung - Kontrolle
3. Reizung-Digitoxigenin-positiv inotroper Bereich
4. Reizung-Digitoxigenin-Bereich der Extrasystolen
5. Reizung-Digitoxigenin-Bereich der Kontraktorentwicklung

Jeder Periode lagen Meßergebnisse für jede Minute berechnet zugrunde, wobei die Anzahl der Meßpunkte zwischen den Perioden und zwischen den Versuchen differierte. Aus diesen Einzelwerten wurden die Summen der Einzelwerte berechnet und mit diesen eine Varianzanalyse (KOLLER 1964; CAVALLI-SFORZA 1964) durchgeführt.

Dieses Vorgehen sollte folgende Probleme klären:

- A. Verhalten der beschriebenen Methode zur Polarographischen Sauerstoffmessung hinsichtlich der Meßkonstanz.
- B. Größe des Versuchsfehlers der Versuchsanordnung
- C. Unterschiede zwischen den Versuchsperioden

b) Ermittlung der Meßwertstreuung (Problem A)

Zur Bestimmung dieser Größe gingen wir nach folgenden Berechnungsschritten vor:

1. $X = x_{11} + x_{12} + \dots + x_{1k} = \sum_{1k} \sum_{ij} x_{ij} =$ Gesamtsumme der Beobachtungswerte

2. $N = n_{11} + n_{12} + \dots + n_{1k} =$ Gesamtzahl der Beobachtungswerte

3. $L = l_1 + l_2 + \dots + l_k =$ Gesamtzahl der untersuchten Herzen

4. Korrekturglied = $\frac{X^2}{N}$

5. Summe der Abweichungsquadrate-insgesamt (SAQ_{total})

$$= \sum_{1k} \sum_{ij} x_{ij}^2 - \frac{X^2}{N} \quad \text{bei } N-1 \text{ Freiheitsgraden}$$

6. Summe der Abweichungsquadrate-zwischen den unters. Herzen

$$(SAQ_{ZH}) = \sum_i \left(\frac{(\sum x_{ij})^2}{\sum n_{ij}} \right) - \frac{X^2}{N}$$

7. Summe der Abweichungsquadrate = innerhalb der unters. Herzen (SAQ_{iH})

$$= SAQ_{total} - SAQ_{ZH} = \text{Meßfehler der Apparatur}$$

$$SAQ_{total} \quad 31961,89 \quad f=667 \quad s^2=47,92$$

$$SAQ_{ZH} \quad 31228,85 \quad f=50 \quad s^2=624,58$$

$$SAQ_{iH} \quad 733,04 \quad f=617 \quad s^2=1,18$$

c) Ermittlung des Versuchsfehlers und der Unterschiede zwischen den Gruppen

Zur Klärung dieser, den Problemen B und C entsprechenden Größen, wurde eine doppelte Varianzanalyse durchgeführt, wobei hierbei die Berechnung mit den $\bar{x}$ -Werten (also ohne Berücksichtigung der unterschiedlichen Anzahl n_{ijz} der Einzelergebnisse) erfolgte.

Die dabei angewandten Symbole bedeuten:

l = Hauptgruppen (=Meßperioden)

k = Untergruppen (=untersuchte Meerschweinchenvorhöfe)

$\bar{x}_{.i}$ = Durchschnitte der Beobachtungswerte je Untergruppe

$\bar{x}_{.j}$ = Durchschnitte der Beobachtungswerte je Hauptgruppe

$\bar{x}_{ij}$ = Einzeldurchschnitt in Haupt- und Untergruppe

Tabelle 1

Grundschema der doppelten Varianzanalyse
(nach KOLLER 1964)

Untergruppen $i(1,k)$	Hauptgruppen $j_1(1,1) \dots j \dots t$	Summe	Mittelwert
1	$x_{11} \ x_{12} \dots \ x_{1j} \dots x_{1t}$	$X_{1.}$	$\bar{x}_{1.}$
2	$x_{21} \ x_{22} \dots \ x_{2j} \dots x_{2t}$	$X_{2.}$	$\bar{x}_{2.}$
.		...	...
.		...	...
i	$x_{i1} \ x_{i2} \dots \ x_{ij} \dots x_{it}$	$X_{i.}$	$\bar{x}_{i.}$
.		...	...
.		...	...
k	$x_{k1} \ x_{k2} \dots \ x_{kj} \dots x_{kt}$	$X_{k.}$	$\bar{x}_{k.}$
Summe	$X_{.1} \ X_{.2} \dots \ X_{.j} \dots X_{.t}$	X	
Mittelwert	$\bar{x}_{.1} \ \bar{x}_{.2} \dots \ \bar{x}_{.j} \dots \bar{x}_{.t}$		$\bar{x}$

Tabelle 2

Doppelte Varianzanalyse mit $\bar{x}$ -Werten

I							
k	1. $\bar{x}_{ij}$	2. $\bar{x}_{ij}$	3. $\bar{x}_{ij}$	4. $\bar{x}_{ij}$	5. $\bar{x}_{ij}$	$\sum_j \bar{x}_{ij} = x_{i.}$	$\sum_j \bar{x}_{ij}^2$
1	5,55	17,25	33,85	26,27	10,31	93,23	2270,60
2	3,28	9,57	10,78	13,40	4,15	41,18	415,33
3	5,50	12,66	21,05	23,60	8,02	70,83	1254,91
4	7,78	18,87	21,22	23,78	21,78	93,43	1906,75
5	8,36	22,94	20,33	26,60	11,21	89,44	1842,67
6	2,35	6,33	8,18	5,36	4,62	26,84	162,58
7	4,27	10,27	11,50	14,44	9,17	49,65	548,56
8	4,38	9,19	11,45	15,40 [*]	9,51	49,93	562,34
9	3,84	8,67	12,05	12,54	11,60	48,70	526,93
$\bar{x}_{.j} = x_{.j}$	45,31	115,75	150,41	161,39	90,37		
x_{ij}^2	259,91	1736,91	3044,20	3331,34	1118,30		

Der in Tabelle 2 fehlende Wert $\bar{x}_{84}$ kann mit Hilfe folgender Formel geschätzt werden:

$$x = \frac{l \cdot L + k \cdot K - X}{(l-1)(k-1)}$$

wobei l = Anzahl der Hauptgruppen

k = Anzahl der Untergruppen

L = Summe der Hauptgruppen (=Spaltensumme)

K = Summe der Untergruppen (=Zeilensumme)

X = Gesamtsumme

Der danach geschätzte Wert $\bar{x}_{84}$ beträgt 15,40.

Mit der somit ergänzten Werttafel wird die doppelte Varianzanalyse durchgeführt.

Die daraus sich ergebenden Endresultate sind nachfolgend nummeriert dargestellt, so daß die in Tabelle 3 dargestellten Summen der Abweichungsquadrate und Mittlere Abweichungsquadrate leicht abgeleitet werden können.

$$\bar{X} = 563,23$$

$$(1) \frac{\bar{X}^2}{N} = 7049,51$$

$$(3) \sum_j \frac{\bar{X}_{\cdot j}^2}{k} = 8031,65$$

$$(2) \sum_{ij} \bar{x}_{ij}^2 = 9490,63$$

$$(4) \sum_i \frac{\bar{X}_{i \cdot}^2}{l} = 8031,65$$

Tabelle 3

Darstellung der SAQ und MAQ aus der doppelten Varianzanalyse.

Art d. Streuung		SAQ	f	MAQ
zwischen den Herzen	(4)-(1)	987,14	$\frac{(k-1)}{8}$	123,39
zwischen den Meßperioden	(3)-(1)	982,14	$\frac{(l-1)}{4}$	245,53
Rest (=Versuchsfehler)	$\frac{(2)+(1)-(3)-(4)}{}$	417,84	$\frac{(k-1)(l-1)-1^*}{31}$	$15,22 = 6\frac{2}{10}$
Insgesamt		2441,12	44	55,48

* = -1 wegen des geschätzten Wertes.

Daraus lassen sich F_1 und F_2 errechnen:

$$F_1 = \frac{MAQ_{ZH}}{MAQ_{Rest}} = 8,10$$

$$F_2 = \frac{MAQ_{zMP}}{MAQ_{Rest}} = 16,13$$

Bei beiden F-Werten ergibt sich Signifikanz. F_1 ist signifikant, da $FG_{(8/31)}$ bei $p=0,01=3,17$; F_2 ist signifikant, da $FG_{(4/31)}$ bei $p=0,01=4,02$.

Damit weichen die Unterschiede zwischen den Herzen und zwischen den Meßperioden beide signifikant vom Versuchsfehler ab.

d) Schlußfolgerungen

Der aus der Summe der Abweichungsquadrate - innerhalb der Untergruppen sowie den dazugehörigen Freiheitsgraden gewonnene Wert gilt als Schätzung für die bei dieser Methode vorliegende Exaktheit der beobachteten Meßergebnisse, d.h. daß dieser Wert eine Aussage über das Ausmaß der Streuung der Meßergebnisse der Apparatur unter gleichen Bedingungen gibt. Dieser Wert ist mit 1,18 im Vergleich zur Gesamtvarianz, die als Mittlerer Abweichungsquadratsumme bei 47,92 liegt, sehr klein. An diesen Ergebnissen läßt sich zeigen, daß der in dieser Arbeit beschriebenen Anordnung zur Sauerstoffmessung kein Einfluß auf die gefundenen Ergebnisse zugesprochen werden kann. Damit sind wahrscheinlich alle bei Anwendung dieser Methode festgestellten Abweichungen von den Optimalwerten auf die Streuung durch biologische Untersuchungsobjekte zu beziehen.

Die Berechnung des Versuchsfehlers bei der hier beschriebenen Sauerstoffmeßanordnung ergibt, daß dieser signifikant von den Unterschieden zwischen den Meßperioden und zwischen den Herzen abweicht. Das bedeutet, daß der in den einzelnen Perioden unterschiedliche Sauerstoffverbrauch nicht durch die beschriebene Meßanordnung oder das unterschiedliche Tiermaterial hervorgerufen ist, sondern als Effekt der Herzglycosidwirkung zugeschrieben werden muß.

IV. Ergebnisse

1. Verhalten der Kontraktionskraft

Die mit 1,0 g Vorspannung belasteten Muskeln entwickelten bei elektrischer Reizung (240 /min) Kontraktionen mit zusätzlichen Spannungsentwicklungen von 0,05 bis 0,19 g/mg TG ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}} = 0,102 \pm 0,014$ g/mg TG bei $n = 10$). Unter dem Einfluß von Digitoxin (10^{-6} g/ml) wurde die Kontraktionskraft deutlich verstärkt. Es entwickelte sich ein maximaler positiv inotroper Effekt von $59\% \pm 7\%$ ($n = 9$) gegenüber dem Kontrollvorlauf. Darauf folgten nach etwa 30 Minuten Extrasystolen und schließlich entwickelte sich bei abnehmender Kontraktionskraft eine Kontraktur, bei der am Versuchsende keine Einzelkontraktionen mehr erfolgten (s. Abb. 3a). Für den statistischen Vergleich wurde das Verhalten des Sauerstoffverbrauches und des Nutzeffektes während dieser verschiedenen funktionellen Stadien getrennt ausgewertet.

2. Verhalten des Sauerstoff-Verbrauches

Der Sauerstoff-Verbrauch veränderte sich während der verschiedenen funktionellen Phasen in charakteristischer Weise. In Abb. 3b ist der gesamte zeitliche Verlauf des

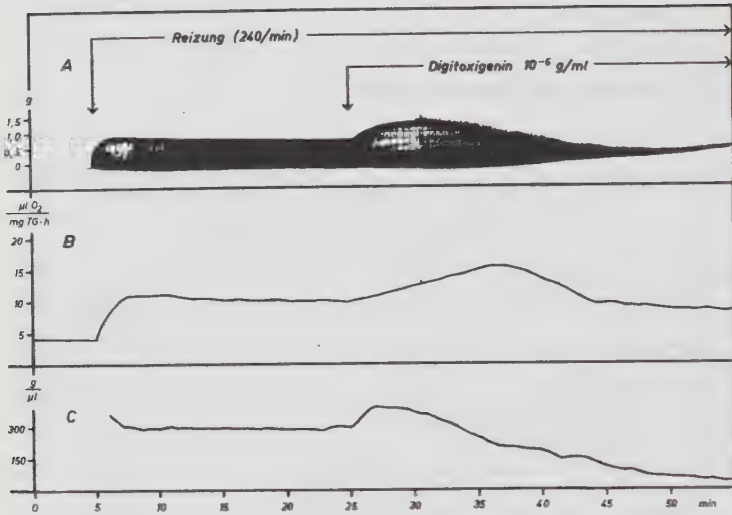


Abb. 3

Einzelbeispiel eines Versuchsverlaufes

- A: Änderungen der Kontraktionskraft (in g) des mit 1 g vorbelasteten Meerschweinchenvorhofes
- B: Verhalten des Sauerstoffverbrauches (in $\mu\text{l}/\text{mg TG} \cdot \text{h}$)
- C: errechneter relativer Wirkungsgrad (in $\text{g}/\mu\text{l}$)

Sauerstoff-Verbrauches während eines Versuches dargestellt. Der Ruhe-Sauerstoff-Verbrauch steigt bei elektrischer Reizung rasch auf ein neues Niveau an und nimmt während der positiv inotropen Digitoxigenin-Wirkung nahezu

parallel zur Kontraktionskraft weiter zu. Beim Auftreten von Extrasystolen folgt ein deutlicher weiterer Anstieg, dann eine allmähliche Abnahme während der Kontrakturphase, bis bei Erlöschen der Einzelkontraktionen der Ruhe- Q_{O_2} -Wert praktisch wieder erreicht ist.

B e d i n g u n g e n		$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	k	n
Kontrolle	1. Ruhe	5,01 $\pm$ 0,21	13	121
	2. Reizung	13,14 $\pm$ 0,35	13	220
Digitoxin 10 ⁻⁶ g/ml	3. positiv inotroper Bereich	15,47 $\pm$ 0,52	13	164
	4. Bereich der Extrasystolen	18,09 $\pm$ 1,16	8	63
	5. Bereich der Kontraktur	7,99 $\pm$ 0,29	10	165
	6. Bereich der Kontraktur ohne Einzelkontraktionen	5,74 $\pm$ 0,26	11	83

Tabelle 4:

Mittlere Q_{O_2} -Werte ($\mu\text{l}/\text{mg TG} \cdot \text{h}$) für die verschiedenen funktionellen Perioden. Angegeben sind Mittelwerte und mittlere Fehler der Mittelwerte ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) von n Einzelwerten aus k unabhängigen Versuchen.

In Tabelle 4 sind die mittleren Q_{O_2} -Werte für die verschiedenen funktionellen Perioden aus sämtlichen Versuchen angegeben (s. auch Abb. 4). Entsprechend der jeweiligen Freiheitsgrade ergeben sich für die verglichenen Perioden

statistisch signifikante Unterschiede (s. unter III.
Absatz 4: Statistische Auswertung der Meßergebnisse).
Daraus ist zu ersehen, daß der Sauerstoff-Verbrauch bei
elektrischer Reizung gegenüber der Ruheperiode um rund

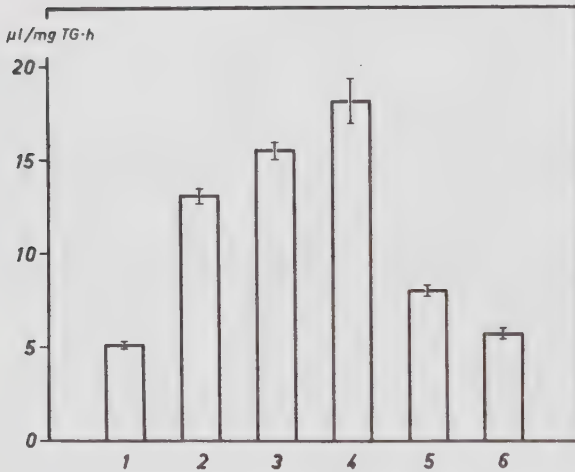


Abb. 4

Graphische Darstellung des Sauerstoffverbrauches (in $\mu\text{l}/\text{mg TG} \cdot \text{h}$) in den verschiedenen funktionellen Phasen der Herzglycosid-Wirkung. Dargestellt sind Mittelwerte mit ihren mittleren Fehlern. Die exakten Zahlenangaben und Bezeichnungen für die einzelnen Phasen finden sich in Tabelle 4.

160% ansteigt. Wird zu dem kontrahierenden Muskel Digitoxigenin gegeben, so ist eine nochmalige Steigerung des Sauerstoff-Verbrauches um rund 12% im therapeutischen Wirkungsbereich zu erkennen. Das Maximum des Sauerstoffverbrauches wird im Beginn der toxischen Phase der Herzglycosidwirkung, dem Bereich der Extrasystolen, beobachtet. Mit dem Auftreten der Kontraktur tritt ein deutlicher Abfall des Sauerstoff-Verbrauches ein, der sich nach Erlöschen der Einzelkontraktionen kaum noch vom Ruhesauerstoff-Verbrauch unterscheidet.

3. Wirkungsgrad des Herzmuskels

Als Maß für den relativen Wirkungsgrad wurde der Quotient zwischen Kontraktionskraft (in g/mg TG.min) und dem Arbeits-Sauerstoff-Verbrauch (in ul/mg TG.min) des Muskels für jedes Präparat errechnet. Der Arbeits-Sauerstoff-Verbrauch resultiert nach Abzug des Ruhe-Sauerstoff-Verbrauches vom Gesamt- $\dot{Q}_{O_2}$. Diese Errechnung des Arbeits-Sauerstoff-Verbrauches unter den geprüften Bedingungen wird gerechtfertigt durch die Feststellung, daß der Ruhe-Sauerstoff-Verbrauch nicht durch Digitoxigenin verändert wurde, wie getrennte Untersuchungen ergeben haben.

Bedingungen		$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	k	n
Kontrolle	2. Reizung	300 ± 10	13	219
Digitoxigenin 10^{-6} g/ml	3. positiv inotroper Bereich	372 ± 19	13	160
	4. Bereich der Extrasystolen	264 ± 29	8	63
	5. Bereich der Kontraktur	255 ± 14	8	139

Tabelle 5

Mittlere Werte für den relativen Wirkungsgrad (g/ μ l).
Weitere Einzelheiten s. Legende zu Tab. 4.

In Tabelle 5 sind die Werte für den Wirkungsgrad der Herzmuskelkontraktionen in den verschiedenen funktionellen Phasen angegeben (s. auch Abb. 5). Im Vergleich zur Kontrollperiode bewirkt Digitoxigenin während der positiv inotropen Wirkungsphase eine Zunahme des relativen Wirkungsgrades um rund 13% (Tab. 5, Abb. 5), dagegen eine Abnahme während der toxischen Phase, wobei er bereits im Bereich der Extrasystolen, noch stärker in der Kontrakturphase unter den bei Reizung in der Kontroll-Periode gefundenen Wert absinkt. Diese Unterschiede sind statistisch gesichert ($P < 0,01$).

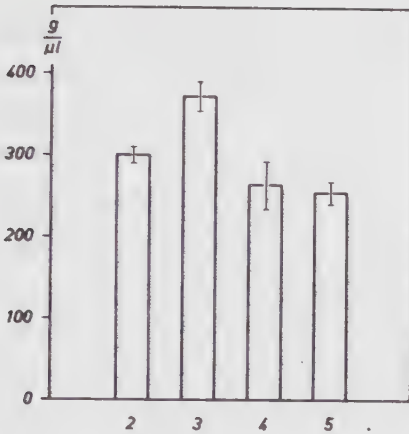


Abb. 5

Graphische Darstellung des errechneten relativen Wirkungsgrades (in g/μl) in verschiedenen funktionellen Phasen der Herzglycosid-Wirkung. Dargestellt sind Mittelwerte mit ihren mittleren Fehlern. Die exakten Zahlenangaben und Bezeichnungen für die hier dargestellten Phasen finden sich in Tabelle 5.

V. Diskussion

Exakte Angaben über die Höhe des Sauerstoff-Verbrauches des Herzmuskels unter der Einwirkung der Herzglycoside können nur dann gemacht werden, wenn die vielfältigen Möglichkeiten der Abhängigkeit der Atmung von anderen Faktoren bekannt sind. Optimale Ergebnisse sind nur zu erwarten, wenn das methodische Vorgehen weitgehend den physiologischen Bedingungen nahe kommt. Da bei Versuchen in vitro die physiologische Sauerstoffversorgung des Gewebes durch das Blut nicht gegeben ist, muß den Gesetzen der Diffusion besondere Beachtung zukommen, um eine optimale Sauerstoffversorgung des Gewebes zu erreichen (HILL 1928, GROTE u. THEWS 1962). Daraus ergibt sich, daß die Schichtdicke des Muskels so gering sein muß, daß allen Zellen durch Diffusion ein optimales Sauerstoffangebot zur Verfügung steht. Da der Sauerstoff-Verbrauch des Herzmuskelgewebes nach Untersuchungen von COHN u. STEELE (1935) und LAURENT u. Mitarb. (1956) von der Frequenz beeinflußt wird, können Ergebnisse, die bei unterschiedlicher Schlagfolge gewonnen sind nur bedingt miteinander verglichen werden.

Weiter bleibt zu berücksichtigen, daß die Inkubationsdauer als entscheidender Faktor angesehen werden muß. So fanden verschiedene Autoren (WOLLENBERGER 1947, FINKELSTEIN u.

BODANSKY 1948 und REITER 1953) eine Atmungsabnahme an Herzmuskelschnitten über lange Zeit, wobei die von Ihnen untersuchten Tierspezies unterschiedliches Verhalten zeigten. LEE u. Mitarb. (1960) zeigten die Abhängigkeit des Q_{O_2} von dem in der Suspensionslösung enthaltenen Substrat.

Der in dieser Arbeit für den Ruhe-Sauerstoff-Verbrauch gefundene Wert deckt sich mit der von BING u. Mitarb. (1950) und BING (1951) in Versuchen an isolierten Herzen unter gleichzeitiger Messung des Coronardurchflusses ermittelten Höhe des Ruhe- Q_{O_2} . Diese Autoren geben einen mittleren Ruhe- Q_{O_2} von $5,58 \mu l O_2 / mg \cdot h$ an. GROTE u. THEWS (1962) berechneten aus Befunden von LAURENT u. Mitarb. (1956) den Ruhe- Q_{O_2} mit $6,6 \mu l O_2 / mg FG \cdot h$. Dieser Wert wurde im Herz-Lungen-Präparat gewonnen und stellt den Verbrauch des Herzens bei einer Frequenz von 60/Min. dar. Berücksichtigt man hierbei den durch die Frequenz bedingten Zuwachs des Sauerstoff-Verbrauches, so läßt sich ebenfalls eine sehr gute Übereinstimmung mit dem in dieser Arbeit gefundenen Wert von $5,6 \mu l O_2 / mg \cdot h$ feststellen. REITER (1953) liegt mit einem Q_{O_2} -Wert für den ruhenden Herzmuskel von $8,0 \mu l O_2 / mg \cdot h$ weit über den bisher genannten Ergebnissen.

Die Bestimmung der vorgenannten Ruhe- $\dot{Q}_{O_2}$ -Werte erfolgte nach der manometrischen Methode an Herzmuskelschnitten. Erst LEE (1960) führte ein Prinzip zur fortlaufenden Sauerstoffmessung in die Untersuchungen ein, womit größere Gewebeeinheiten untersucht werden können. Mit dieser Methode fanden LEE u. Mitarb. (1960) in allen untersuchten Bereichen $\dot{Q}_{O_2}$ -Werte, die verglichen mit den Befunden anderer Untersucher, in annähernd gleichen Relationen über 50% tiefer liegen. Danach liegen die Ruhe- $\dot{Q}_{O_2}$ -Werte in Abhängigkeit vom angebotenen Substrat im Bereich zwischen 1-3 $\mu l O_2/mg \cdot h$. Eine Erklärung für diese von der Literatur abweichenden Befunde könnte in der von LEE verwandten Methode zu suchen sein, wobei im wesentlichen drei Störfaktoren der Sauerstoffmessung zu nennen wären. Einmal könnten Beeinflussungen der Messungen durch das Ionenmilieu der Badlösung dadurch aufgetreten sein, daß LEE keine vollkommene Isolierung der Sauerstoff-Elektrode von der Badlösung erreichen konnte. Im gleichen Sinne ist die Verwendung einer Polyäthylenmembran und die Lage der Bezugselektrode außerhalb der Membran insofern von Bedeutung als Polyäthylen einen vollkommenen elektrischen Isolator darstellt, womit ein Stromzufluß praktisch nur über artifizielle Kurzschlüsse zur Bezugselektrode möglich war und damit wiederum das Ionenmilieu der untersuchten Lösung eine Beeinflussung der Messung bewirkt

haben könnte. Weiterhin führt eine so extrem langsame Perfusionsgeschwindigkeit (0,9 - 1,9 ml/h), wie sie von LEE u. Mitarb. (1960) gewählt werden mußte, zu einer anoxischen Schädigung des Muskels. Diese Feststellung muß aus dem bei LEE u. Mitarb. zu findenden Befund eines Abfalles der Kontraktionsamplitude und des Sauerstoffverbrauches über die Versuchsdauer geschlossen werden. Dazu kommt noch, daß LEE mit Plexiglas arbeitete, von dem ja bekannt ist, daß es aufgrund seines physikalischen Verhaltens geeignet ist, Sauerstoff zu absorbieren und dadurch die Aussagekraft der unter diesen Bedingungen gefundenen Meßwerte erheblich beeinträchtigt. Da der vorliegenden Arbeit eine Modifizierung der Methode nach LEE (1960) zugrunde liegt, darf angenommen werden, daß die getroffenen Veränderungen die Ergebnisse soweit verbessert haben, daß weitgehende Übereinstimmung mit allen früheren Untersuchern erzielt werden konnte.

Eine wesentliche Änderung im System besteht in der Verwendung von Glas statt eines Kunststoffes. Wie vorher ausgeführt wurde, beeinträchtigt Kunststoff aufgrund seines physikalischen Verhaltens gegenüber Sauerstoff jede derartige Messung erheblich. Diese Unsicherheit einer exakten Sauerstoffmessung wird bei LEE u. Mitarb. noch dadurch erhöht, daß durch eine geringere Absaugge-

schwindigkeit 0,9 - 1,9 ml/h der Sauerstoff der zu untersuchenden Lösung eine entsprechend größere Kontaktzeit mit dem Kunststoffgefäß hatte. Weiterhin hat die Reizfrequenz entscheidenden Einfluß auf die Höhe des Sauerstoff-Verbrauches. Bei der von LEE u. Mitarb. angegebenen Reizfrequenz von 60/Min. wird ein niedrigerer $\dot{Q}_{O_2}$ -Wert zu erwarten sein, als er in dieser Arbeit bei 240/Min. gefunden werden konnte. Nicht zuletzt könnte der Unterschied in der Höhe der $\dot{Q}_{O_2}$ -Werte auch an den Vorbedingungen und dem Zeitpunkt der Messung erklärt werden. Die von LEE u. Mitarb. angegebenen $\dot{Q}_{O_2}$ -Werte wurden für den Ruhe- $\dot{Q}_{O_2}$ erst bestimmt, wenn sich ein Gleichgewichtszustand in der Atmung eingestellt hatte. Dieser Zustand wird aber erst nach einem Atmungsabfall gefunden, der an Herzschnitten von Meerschweinchen (WOLLENBERGER 1947) und Katzen (FINKELSTEIN u. BODANSKY 1948) gemessen in der ersten halben Stunde 33% des Ausgangswertes beträgt. Tatsächlich haben LEE u. Mitarb. (1961) den Ruhe- $\dot{Q}_{O_2}$ erst nach 30-40 Min. Versuchsdauer an hypodynamen Muskeln bestimmt.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung der Herzglycoside erstmals an nicht speziell vorgeschädigten Präparaten geprüft. Dabei war die Frage zu klären, wie sich die Arbeit des Herzmuskels unter diesen Bedingungen

bei Einwirkung von Herzglycosiden verhält. Im Gegensatz zu LEE war in den vorliegenden Untersuchungen das Maximum der Sauerstoffaufnahme unter Einwirkung von Digitoxigenin beim Auftreten von Extrasystolen zu beobachten, während in der Phase der Kontraktur ein deutlicher Abfall registriert werden konnte. Ähnliche Beobachtungen hatten schon PETERS u. FISCHER (1936) mitgeteilt. Am Herz-Lungen-Präparat konnten sie nachweisen, daß eine Zunahme des Sauerstoff-Verbrauches im therapeutischen Wirkungsbereich der Herzglycoside von einem raschen Atmungsabfall und Verschlechterung des Wirkungsgrades des Herzens bei eingetretener Spontaninsuffizienz, d.h. in der toxischen Phase, gefolgt war. Diesen Befunden widersprachen Beobachtungen, die von GREMELS (1937) und GOLLWITZER-MEIER u. Mitarb. (1937) gemacht wurden. Ebenfalls am Herz-Lungen-Präparat fanden diese Autoren eine Abnahme des Sauerstoff-Verbrauches im therapeutischen Wirkungsbereich der Herzglycoside. Die Verschlechterung des Wirkungsgrades bei Spontaninsuffizienz wurde in diesen Untersuchungen als Folge der Atmungs Zunahme unter diesen Bedingungen gesehen. Eine Erklärung für diese gegensätzlichen Befunde läßt sich in dem unterschiedlichen methodischen Vorgehen vorgenannter Untersucher finden. Da die Herzleistung wesentlich durch das diastolische Füllungsvolumen mitbestimmt wird, darf

angenommen werden, daß die Befunde von GREMELS (1937) u. GOLLWITZER-MEIER u. Mitarb. (1937) durch diesen Faktor beeinflußt worden sein könnten. PETERS u. FISCHER (1936) gaben dagegen für ihre Herz-Lungen-Präparate eine Konstanzhaltung des diastolischen Füllungsvolumens an. Weiterhin bleibt bei Untersuchungen an spontanschlagenden Präparaten immer zu berücksichtigen, daß die Frequenz einen wesentlichen Einfluß auf den Sauerstoffverbrauch ausübt (OPITZ u. THEWS 1952). Da sie während der Ausbildung einer Herzinsuffizienz ansteigt, im therapeutischen Wirkungsbereich der Herzglycoside aber wieder normalisiert wird, können aus Befunden an spontanschlagenden Präparaten nur bedingt Aussagen über den Wirkungsgrad der Einzelkontraktionen abgeleitet werden.

REITER (1953) wies nach Untersuchungen an Herzmuskelstreifen der Ratte daraufhin, daß Strophanthin den Sauerstoff-Verbrauch erst steigerte, wenn die Kontraktionskraft um ca. 30% abgefallen war. Auffällig war in seinen Untersuchungen allerdings der Befund, daß eine Reizung der Rattenherzstreifen keinen Einfluß auf den Sauerstoff-Verbrauch hatte, d.h. die Kontraktionen nicht von einem zusätzlichen Sauerstoffverbrauch begleitet waren.

LEE u. Mitarb. (1960) fanden in ihren Untersuchungen an Katzenpapillarmuskeln eine stetig zunehmende Sauerstoff-Aufnahme mit Beginn im positiv inotropen Bereich bis hin zum toxischen Stadium.

Dieser Unterschied gegenüber den in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Ergebnissen darf in verschiedenen Gründen gesucht werden. Der zeitliche Beginn der Sauerstoffmessung liegt in den Untersuchungen von LEE u. Mitarb. (1960) im Gegensatz zu den eigenen Versuchen erst in einem Stadium, in dem die Muskel-Präparationen bereits hypodynam waren. Weiterhin konnten LEE u. Mitarb. (1960), wahrscheinlich aus methodischen Gründen, keine Trennung des toxischen Wirkungsbereiches der Herzglycoside in die einzelnen in der vorliegenden Untersuchung vorgeschlagenen Stadien vornehmen, so daß nicht mit Sicherheit gesagt werden kann, ob die von ihnen angegebenen Beobachtungen im toxischen Wirkungsbereich nicht den im Stadium der Extrasystolen vorliegender Arbeit gefundenen Veränderungen der Sauerstoff-Aufnahme entsprechen. Die Ursache dafür wäre besonders in dem schon erwähnten geringeren zeitlichen Auflösungsvermögen der von LEE (1960) angegebenen Methode zu suchen. Damit verbunden ist zwangsläufig eine Unsicherheit in der Korrelation zwischen Sauerstoff-Verbrauch und mechanischer Aktivität des Herzmuskels.

Die in der vorliegenden Arbeit mitgeteilten Ergebnisse zeigen, daß der an insuffizienten Herzen beobachtete Effekt einer Verbesserung des Wirkungsgrades im therapeutischen Wirkungsbereich der Herzglycoside auch für das nicht vorgeschädigte Herzmuskelpräparat gilt.

In Übereinstimmung mit LEE u. Mitarb. (1960) kann bereits während der positiv inotropen Phase ein Anstieg des Sauerstoff-Verbrauches gesehen werden. Dieser Anstieg beträgt ca. 12% gegenüber einer Kontraktionskraft-Zunahme um 59%. Daraus muß geschlossen werden, daß die Zunahme der Kontraktionskraft nicht durch eine primäre Verbesserung des oxydativen Stoffwechsels bewirkt wird, da sonst ein erheblich höherer Anstieg der Sauerstoff-Verbrauchs-Zunahme erwartet werden müßte. Den gleichen Befund teilten in jüngster Zeit KOYAMA u. BRECHT (1965) mit, die an hypodynamen Muskeln die kontraktionsfördernde Wirkung von Strophanthin untersucht und dabei keine Erhöhung des oxydativen Stoffwechsels gefunden hatten. Die Relation zwischen Kontraktionskraftentwicklung und Zunahme des Sauerstoffverbrauches ist unter diesen Bedingungen günstiger als in der Kontrollperiode, was auf eine bessere Transformation der chemischen Energie in mechanische Arbeit hinweist. Eine Berechnung des mechanischen Nutzeffektes auf der Basis derartiger

Werte ist jedoch nur mit gewissen Vorbehalten möglich, da aus der summarischen Ermittlung der O_2 -Verbrauchsänderungen nicht hervorgeht, welcher Anteil wirklich exakt dem Kontraktionsprozeß und welcher anderen Zellfunktionen zuzuordnen ist. Dieser Wert kann somit nur bedingt als Maß für die Effektivität der Energieumwandlung herangezogen werden, ist jedoch für praktische Überlegungen sehr nützlich.

Die am Versuchsende sich entwickelnde Kontraktur scheint energetisch weitgehend unabhängig zu sein, da nach Erlöschen der Einzelkontraktionen trotz weiterbestehender erhöhter Grundspannung der dabei verbrauchte Sauerstoff ungefähr dem Ruhe-Sauerstoff-Verbrauch gleicht.

Für die Phase der Extrasystolie mit ihrem sehr stark erhöhten Sauerstoff-Verbrauch gelten wahrscheinlich andere Verhältnisse. Die Zunahme des oxydativen Stoffwechsels bei abnehmender Leistung des Muskels in dieser Phase könnte als Kompensationsmechanismus zur Aufrechterhaltung des intracellulären Ionenmilieus gedeutet werden. Das würde bedeuten, daß die energieliefernden Prozesse gesteigert werden mit dem Ziel einer erhöhten Energiebereitstellung in Form von ATP sowohl für den aktiven Ionentransport als auch für die kontraktile Elemente. Eine Stütze findet diese Darstellung in Befunden, die LEE u. Mitarb. (1960) mitgeteilt haben.

Danach ließ sich kein Einfluß von Strophanthin auf den Sauerstoff-Verbrauch mehr nachweisen, wenn als Substrate Glucose und Pyruvat gemeinsam Verwendung fanden. Diese Substrat-Kombination bewirkte in diesen Versuchen bereits einen Anstieg des Ruhe- $\dot{Q}_{O_2}$ insuffizienter Muskeln um ca. 90% auf $4 \mu l O_2 / mg \cdot h$. Hierbei käme also eine größere Energiebereitstellung aufgrund besser von der Zelle verwertbarer Substrate zustande.

Die Zunahme des Nutzeffektes im therapeutischen Wirkungsbereich von Digitoxigenin dürfte auf einer Verbesserung der elektromechanischen Kopplung (Lit. s. LÜTTGAU 1965) beruhen. Dies steht im Einklang mit früheren Untersuchungen, in denen eine Erhöhung des "freien" cellulären Calciums unter diesen Bedingungen nachgewiesen wurde (Übersichten: GREEFF 1963; KLAUS 1964). Die energetisch indifferente Erhöhung der myoplasmatischen Calcium-Konzentration führt dann zu einer verbesserten Transformation der Erregung in die spezifische Zellfunktion (s. KLAUS u. LÜLLMANN 1964; KLAUS 1964) und damit zur Verbesserung des Wirkungsgrades des Herzmuskels unter dem Einfluß der Herzglycoside. Für die toxische Phase wurde von TOHMAS (1960) sowie HOLLAND u. SEKUL (1959) eine Behinderung des Calcium-Austausches durch Zellmembranen unter Glycosid-Einwirkung angenommen, andererseits

von HOLLAND u. KLEIN (1960) und HOLLAND u. LÜLLMANN (1962) vermutet, daß dabei möglicherweise allein der intracelluläre Gehalt an ionisiertem Calcium erhöht wird. Beide Wege führten zu einer Erhöhung der intracellulären Calcium-Konzentration, die von den energieliefernden Prozessen in der Zelle unabhängig zu sein scheint, wie dies aus dem Verhalten des Sauerstoffverbrauches und des Nutzeffektes während dieser Periode hervorgeht.

•
x

VI. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird ein modifiziertes Verfahren zur fortlaufenden Registrierung von Sauerstoffverbrauch und Kontraktionskraft eines in einer Elektrolytlösung befindlichen Muskelpräparates beschrieben. Die Sauerstoffmessung erfolgt nach dem CLARK-Prinzip mit Hilfe einer Platinelektrode, die durch einige Veränderungen (0,6 μ Teflonmembran, Agar-Agar Zusatz zur KCl-Brücke, Kalomelbezugselektrode) stabilisiert und in ihrer Empfindlichkeit verbessert wurde.

Das dadurch gewonnene bessere Auflösungsvermögen der Sauerstoffkonzentrationsänderungen und ihrer genaueren zeitlichen Zuordnung zum mechanischen Geschehen am Muskel, erlaubte eine eingehende Untersuchung der verschiedenen funktionellen Phasen der Herzglycosidwirkung.

Der Sauerstoffverbrauch nicht kontrahierender linker Meerschweinchenvorhöfe betrug im Mittel 5,01 μ l/mg IG $\cdot$ h. Dieser Wert wurde durch Digitoxigenin (10^{-6} g/ml) nicht beeinflusst. Bei elektrischer Reizung (240/min) stieg der Sauerstoffverbrauch um etwa 160% an. Eine positiv inotrope Digitoxigeninwirkung von 59% war mit einer nur 12%igen Zunahme des Arbeitssauerstoffverbrauches verbunden, woraus sich eine Verbesserung des Wirkungsgrades im Vergleich zu den Kontrollbedingungen ableiten ließ.

Im Beginn der toxischen Phase, dem Bereich des Auftretens von Extrasystolen, dagegen wurde bei unveränderter oder allmählich abnehmender Kontraktionskraft eine maximale Steigerung des O_2 -Verbrauches auf rund $18 \mu l / mg \text{ TG} \cdot h$ beobachtet. Der Wirkungsgrad nahm während dieser Periode ab und erreichte in der Kontrakturphase, trotz gleichzeitiger Verminderung des Sauerstoffverbrauches sein Minimum. Nach Erlöschen der Einzelkontraktionen in der Kontrakturphase war der Sauerstoffverbrauch - bei weiterbestehender erhöhter Grundspannung - nur noch geringfügig höher als der Ruhewert.

Diese Befunde wurden mit früheren Angaben über den Einfluß von Digitalisglycosiden auf den oxydativen Stoffwechsel und die Arbeit des Herzmuskels verglichen. Eine Deutung der beobachteten Funktionsänderungen wurde unter Berücksichtigung neuerer Vorstellungen über die Wirkung dieser Substanzen auf die elektromechanische Kopplung versucht.

Meinen besonders herzlichen Dank darf ich
an dieser Stelle Herrn W. Fleck für sein
großes Interesse und die viele Mühe bei
der Entwicklung der Methode aussprechen.

VII. Literaturverzeichnis

BARBEY, K.:

Sauerstoffversorgung und Sauerstoffverbrauch des
Froschherzens in Ruhe.
Dissertation, Kiel (1953)

BARTELS, H. u. W. REINHARDT:

Einfache Methode zur Sauerstoffdruckmessung im Blut
mit einer kunststoffüberzogenen Platinelektrode.
Pflügers Arch. Physiol. 271 (1960), 105-114

BING, R.J., F.M. MARAIST, J.F. DAMMANN, A. DRAPER, R. HEIM
BECKER, R. DALEY, R. GERARD and P. CALAZEL:

Effect of Strophanthus on coronary blood flow and car-
diac consumption of normal and failing human hearts.
Circulation 2 (1950), 513-516

BING, R.J.:

The coronary circulation in health and disease as
studied by coronary sinus catheterisation.
Bull. N.Y. Acad. Med. 27 (1951), 407-424

BREZINA, M. and P. ZUMAN:

Polarography.
Interscience Publishers, New York-London (1958)

CARLSON, F.D., F. BRINK and D.W. BRONK:

A continuous flow respirometer utilizing the oxygen
cathode.
Rev. sci. Instruments 21 (1950), 923-932

CATER, D.B., J.A. SILVER and G.M. WILSON:

Apparatus and technique for the quantitative measure-
ment of oxygen tension in living tissues.
Proc. Roy. Soc., London, Biol. Sc. 151 (1959), 256-276

CAVALLI-SFORZA, L.:

Grundbegriffe der Biometrie.

G. Fischer Verlag, Stuttgart (1964)

CLARK, L.C., R. WOLF, D. GRANGER and Z. TAYLOR:

Continuous recording of blood oxygen tension by polarography.

J.Appl.Physiol., Wash. 6 (1953), 189-193

CLARK, L.C.:

Monitor and control of blood and tissue oxygen tension.

Amer.Soc. for Art.Int.Organe 2 (1956), 41-47

COHN, A.E. and J.M. STEELE:

The influence of frequency of contraction of the isolated mammilian heart upon the consumption of oxygen.

Amer.J.Physiol. 113 (1935), 654-658

DAVIES, P. and D.W. BRONK:

Rapid bursts of oxygen consumption in stimulated muscle.

Rev.sci.Instruments 13 (1942), 524-533

DRENKHAHN, F.O.:

Untersuchungen zur polarometrischen Messung des Sauerstoffdruckes (pO_2) im Blut mit Platinelektrode.

Die Naturwissenschaften 38 (1951), 455-456

DRENKHAHN, F.O.:

Über eine Methode zur Messung des Sauerstoffdruckes im Blut mit der Platin-Kathode.

Pflügers Arch.Physiol. 262 (1956), 169-180

FINKELSTEIN, M. and O. BODANSKY:

The effect of cardiac glycosides on the respiration
of cardiac muscle.

J.Pharmacol.Exper.Therap., Baltimore 94 (1948), 274-287

GEIGY, J.R., AG.:

Pharmazeutische Abteilung:

Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen,

6. Aufl., Basel 1960

GLEICHMANN, U. u. D.W. LÜBBERS:

Die Messung des O_2 -Druckes in Gasen u. Flüssigkeiten
mit der Pt-Elektrode unter besonderer Berücksichti-
gung der Messung im Blut.

Pflügers Arch.Physiol. 271 (1960), 431-455

GOLLWITZER-MEIER, K. u. E. KRÜGER:

Herzenergetik und Strophanthinwirkung bei verschie-
denen Formen der experimentellen Herzinsuffizienz.

Pflügers Arch.Physiol. 238 (1937), 251-278

GREEFF, K.:

Zur Pharmakologie der herzwirksamen Glycoside.

Klin.Physiol. Thieme-Verlag, Stuttgart

1 (1963), 340-370

GREMELS, H.:

Über den Einfluß von Digitalisglykosiden auf die
energetischen Vorgänge am Säugetierherzen.

Arch.exper.Path.Pharmak., Leipzig 186 (1937), 625-660

GROTE, J. u. G. THEWS:

Die Bedingungen für die Sauerstoffversorgung des
Herzmuskelgewebes.

Pflügers Arch.Physiol. 276 (1962), 142-165

HEYROVSKY, J.:

Polarographisches Praktikum.

Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1948)

HILL, A.V.:

The diffusion of oxygen and lactic acid through tissues.

Proc.Roy.Soc., London, Biol.Sc. 104, (1928, 39-96

HOLLAND, W.C. and A.A. SEKUL:

Effect of ouabain on Ca^{45} and Cl^{36} exchange in isolated rabbit atria.

Amer.J.Physiol. 197 (1959), 757-760

HOLLAND, W.C. and R.L. KLEIN:

Chemistry of Heart Failure.

Charles C. Thomas, Springfield, USA (1960)

HOLLAND, W.C. u. H. LÜLLMANN:

Der Einfluß von Strophanthin und Barium-Ionen auf das Verhältnis zwischen Kontraktionskraft des Herzens und Änderungen der extracellulären Calcium-Konzentration.

Arch.exper.Path.Pharmak., Leipzig 243 (1962), 495-500

KLAUS, W. u. H. LÜLLMANN:

Calcium als intracelluläre Überträgersubstanz und die mögliche Bedeutung dieses Mechanismus für pharmakologische Wirkungen.

Klin.Wschr. 42 (1964) 253-259

KLAUS, W.:

Neuere Aspekte über den Wirkungsmechanismus der Herzglycoside.

Z.Grundlagenforsch. 2 (1964), 43-117

KOLLER, S.:

Statistische Auswertungsmethoden.

In: Rauen, H.M. Biochemisches Taschenbuch

2. Teil, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg-New York (1964)

KOLTHOFF, J.M. and J.J. LINGANE:

Polarographie.

Interscience Publishers, New York - London (1952)

KOYAMA, T. u. K. BRECHT:

Ein Beitrag zur Stabilisierung der Pt-Elektrode und ihrer Anwendung bei gleichzeitiger Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs und der mechanischen Aktivität des Muskels.

Pflügers Arch. Physiol. 284 (1966), 181-188

KREUZER, F.:

Modellversuche zum Problem der Sauerstoffdiffusion in der Lunge.

Habil.-Schrift, Basel 1953

KREUZER, F., R. WATSON and J.M. BALL:

Comparative measurements with a new procedure for measuring the blood oxygen tension in vitro.

J. Appl. Physiol., Wash. 12 (1958), 65-70

KUNZE, K. u. D.W. LÜBBERS:

Die Messung des lokalen O_2 -Verbrauches von Organen in situ mit der Platinelektrode.

Pflügers Arch. Physiol. 274 (1961), 74-75

KUNZE, K., D.W. LÜBBERS u. E. WINDISCH:

Die Messung des absoluten Sauerstoffdruckes mit der Kammer-Pt-Elektrode in beliebigen Medien, insbesondere im Blut und Gewebe.

Pflügers Arch. Physiol. 276 (1962), 415-428

KUNZE, K.:

Eine Katheterelektrode zur kontinuierlichen Messung
des Sauerstoffdruckes.

Pflügers Arch.Physiol. 279 (1964), 94-97

LAURENT, D., C. BOLENE-WILLIAMS, F.L. WILLIAMS and L.N. KATZ:

Effect of heart rate on coronary flow and cardiac
oxygen consumption.

Amer.J.Physiol. 185 (1956), 355-364

LEE, K.S.:

The relationship of the oxygen consumption to the
contraction of the cat papillary muscle.

J.Physiol. 151 (1960), 186-201

LEE, K.S., D.H. YU and R. BURSTEIN:

The effect of ouabain on the oxygen consumption,
the high energy phosphates and the contractility
of the cat papillary muscle.

J.Pharmacol.Exper.Therap., Baltimore 129 (1960), 115-122

LEVY, J., O. LIBERT et A. SCHWOB:

Pharmacodynamie cellulaire:

V. Etude du mode d'action des digitaliques.

Respiration des cellules du myocarde sous

l'influence de l'ouabaine.

Bull. Soc.Chim.biol., Paris 28 (1946), 647-551

LÜBBERS, D.W.:

Die kontinuierliche und absolute Messung des
Sauerstoffdruckes im Gewebe.

Pflügers Arch.Physiol. 279 (1964), 94-97

LÜBBERS, D.W.:

Neuartige Meßketten zur Messung von Ionenkonzentrationen, insbesondere pH, in biologischen Flüssigkeiten und auf dem Gewebe.

Pflügers Arch.Physiol. 276 (1962), 407-414

LÜBBERS, D.W. u. E. WINDISCH:

Die Messung hoher Sauerstoffdrucke in kleinen Gas-
oder Flüssigkeitsmengen mit der Pt-Elektrode.
Pflügers Arch.Physiol. 276 (1962), 429-434

LÜTTGAU, H.Ch.:

Nerven- und Muskelelektrophysiologie.
Fortschr. Zool. 17 (1965), 272-293

MEITES, L.:

Polarographic Techniques.
Interscience Publishers, New York-London (1955)

MOE, G.K. and M.V. VISSCHER:

Studies on the native glycosides of digitalis lina-
ta with particular reference to their effects upon
cardiac efficiency and their toxicity.
J.Pharmacol.Exper.Therap., Baltimore 64 (1938), 65-85

MORGAN, E.H. and G.G. NAHAS:

Study of relationship of arterial oxygen tension
to alveolar oxygen pressure in man, utilizing a
polarometric method for whole blood.
Amer.J.Physiol. 163 (1950), 736

OPITZ, E. u. G. THEWS:

Einfluß von Frequenz und Faserdicke auf die Sauer-
stoffversorgung des menschlichen Herzmuskels.
Arch.Kreislaufforsch. 18 (1952), 137-151

PETERS, H. and M.B. FISCHER:

Energy metabolism of the heart in failure and in-
fluence of drugs upon it.
Amer. Heart J. 11 (1936), 273-291

REITER, M.:

Wirkung von Strophantin auf Kontraktionskraft und
Sauerstoffverbrauch des Herzstreifens der Ratte.
Arch.exper.Path.Pharmak., Leipzig, 219 (1953), 315-332

SEVERINGHAUS, J.W. and A.F. BRADLEY:

Elektrodes for Blood pO_2 and pCO_2 Determination.
J.Appl.Physiol., Wash., 13 (1958), 515-520

THEWS, G.:

Theoretische Grundlagen für die Bestimmung der Ver-
brauchsfunktion des kontraktionsabhängig atmenden
Muskels.

Pflügers Arch.Physiol. 273 (1961), 367-379

THEWS, G.:

Ein Mikroanalyse-Verfahren zur Bestimmung der Sauer-
stoffdrucke in kleinen Blutproben.

Pflügers Arch.Physiol. 276 (1962), 89-98

THEWS, G.:

Die Sauerstoffdrucke im Herzmuskelgewebe.

Pflügers Arch.Physiol. 276 (1962), 166-181

TÖDT, F.:

Elektrochemische Sauerstoffmessungen.

W. de Gruyter u. Co., Berlin (1958)

TOHMAS, L.J.:

Increase of labeled calcium uptake in heart muscle
during potassium lack contracture.

J.Gen.Physiol., Baltimore, 43 (1960), 1193-1206

WINNE, D.:

Zur Auswertung von Versuchsergebnissen:

Die Prüfung, ob Kurven sich in ihrem Verlauf unterscheiden.

Arch.exper.Path.Pharmak., Leipzig 250 (1965), 383-396

WOLLENBERGER, A.:

Metabolic action of the cardiac glycosides

I. Influence on respiration of heart muscle and cortex.

J.Pharmacol.Exper.Therap., Baltimore 91 (1947), 39-51

Lebenslauf

Am 13. Februar 1940 wurde ich, Rolf Krebs, als Sohn des Drogisten Kurt Krebs und seiner Ehefrau Helene, geb. Heuser, in Mainz geboren.

Im Herbst 1946 wurde ich in Frankenberg/Sa. eingeschult. Dort besuchte ich bis 1954 die Grundschule und bis 1958 die Oberschule der gleichen Stadt. Im Juli 1958 bestand ich vor dem Prüfungsausschuß der Oberschule Frankenberg/Sa. die Reifeprüfung. Da sich mir keine Möglichkeit zum Beginn eines Studiums bot, siedelte ich im August 1958 in die Bundesrepublik Deutschland über. Vom November 1958 an besuchte ich die Karl Rehbein-Schule in Hanau/Main und erhielt dort im Oktober 1959 nach einer Zusatzprüfung die Bestätigung meiner in der SBZ abgelegten Reifeprüfung. Mein Medizinstudium begann ich an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt/M. im Wintersemester 1959/60. Im Oktober 1960 bestand ich dort die Naturwissenschaftliche Vorprüfung.

Vom Sommersemester 1962 bis Ende des Wintersemesters 1962/63 war ich an der Friedrich Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg immatrikuliert, wo ich im April 1963 die Ärztliche Vorprüfung ablegte.

Seit dem Sommersemester 1963 studierte ich an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz. Hier bestand ich am 26. Juli 1966 die Ärztliche Prüfung. Seit dem Wintersemester 1963/64 arbeitete ich am Pharmakologischen Institut der Johannes Gutenberg-Universität an meiner Dissertation.

